



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102631386 B

(45) 授权公告日 2013. 09. 18

(21) 申请号 201210144291. 2

(22) 申请日 2012. 05. 10

(73) 专利权人 四川德培源中药科技开发有限公司

地址 621000 四川省绵阳市高新区一康路
16 号

(72) 发明人 马家骅 张翠鳌 索志荣 马璇
杨兴旺

(74) 专利代理机构 四川力久律师事务所 51221
代理人 曹晋玲 刘雪莲

(51) Int. Cl.

A61K 36/233(2006. 01)

A61P 29/00(2006. 01)

A61K 125/00(2006. 01)

审查员 翟羽

权利要求书1页 说明书8页

(54) 发明名称

柴胡解热镇痛制剂及其制备工艺

(57) 摘要

本发明涉及中药制剂领域,具体公开了一种柴胡解热镇痛制剂及其制备工艺。本发明的柴胡解热镇痛制剂,含有柴胡挥发油、柴胡皂苷和可药用辅料,所述柴胡挥发油与柴胡皂苷的体积重量比为 1:0.5 ~ 10 (ml/g)。作为优选,所述柴胡挥发油与柴胡皂苷的体积重量比为 1:1 ~ 6(ml/g)。同时,本发明公开了前述柴胡解热镇痛制剂的制备工艺。本发明的柴胡解热镇痛制剂,解热镇痛效果显著,用药途径广泛。

1. 柴胡解热镇痛制剂, 含有柴胡挥发油和柴胡皂苷, 其特征在于, 所述柴胡挥发油与柴胡皂苷的体积重量比为 1:0.5 ~ 10 (ml/g);

所述柴胡皂苷中柴胡皂苷 a 质量百分比含量 $\geq 40\%$, 柴胡皂苷 d 质量百分比含量 $\geq 30\%$, 柴胡总皂苷质量百分比含量 $\geq 80\%$;

所述的柴胡解热镇痛制剂按照以下工艺步骤制备:

(1) 取柴胡药材粉碎至 20 ~ 60 目, 二氧化碳超临界萃取法或溶剂法提取柴胡挥发油;

(2) 取粉碎至 20 ~ 60 目的柴胡药材或所述步骤(1) 提取挥发油后的药渣, 乙醇渗漉, 大孔树脂与氧化铝分离纯化, 提取柴胡皂苷;

(3) 量取配方量步骤(1) 所得的柴胡挥发油与配方量步骤(2) 所得的柴胡皂苷, 和配方量可药用辅料混合, 制成柴胡解热镇痛制剂。

2. 根据权利要求 1 所述的柴胡解热镇痛制剂, 其特征在于, 所述柴胡挥发油与柴胡皂苷的体积重量比为 1:1 ~ 6 (ml/g)。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的柴胡解热镇痛制剂, 其特征在于, 所述制剂选自颗粒剂、片剂、胶囊剂、口服液体制剂、鼻用液体制剂、注射剂或冻干粉针剂的任一种。

4. 根据权利要求 1 所述的柴胡解热镇痛制剂, 其特征在于, 步骤(1) 所述提取方法为二氧化碳超临界萃取法。

5. 根据权利要求 1 所述的柴胡解热镇痛制剂, 其特征在于, 步骤(2) 所述氧化铝分离纯化包括: 取大孔树脂分离纯化后的柴胡皂苷粗品, 用 3 ~ 5 倍量 (mL/g) 溶剂分散, 加入相当于所述柴胡皂苷粗品 2 ~ 5 倍量 (g/g) 氧化铝, 拌干溶剂, 得拌样氧化铝; 或取所述柴胡皂苷粗品, 加入 5 ~ 20 倍量 (mL/g) 溶剂溶解, 得柴胡皂苷上样溶液; 取相当于所述柴胡皂苷粗品 8 ~ 20 倍量 (g/g) 氧化铝, 干法装柱; 将所述拌样氧化铝或所述柴胡皂苷上样溶液加入柱顶, 所述溶剂以每小时 5 ~ 10BV 速度洗脱, 收集洗脱液, 薄层检识, 合并含有柴胡皂苷的流分, 浓缩回收溶剂, 得柴胡皂苷; 所述溶剂选自水、乙醇、甲醇、二氯甲烷、氯仿或丙酮的任一种或它们的任意混合物。

6. 根据权利要求 1 所述的柴胡解热镇痛制剂, 其特征在于, 步骤(3) 中, 量取配方量步骤(1) 所得的所述柴胡挥发油先进行包合。

7. 根据权利要求 5 所述的柴胡解热镇痛制剂, 其特征在于, 所述的氧化铝柱的径高比为 1:3 ~ 1:5。

柴胡解热镇痛制剂及其制备工艺

技术领域

[0001] 本发明属于中药药物制剂技术领域,特别涉及一种稳定、高效的柴胡解热镇痛制剂及其制备工艺。

背景技术

[0002] 柴胡是大宗常用中药,《神农本草经》列为上品,为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzoniferifolium* Willd的干燥根,味苦,微寒,归肝、胆经,是和解表里,疏肝,升阳之要药。柴胡主要用于感冒发热,寒热往来,胸胁胀痛,月经不调,子宫脱垂,脱肛等病症的治疗。现代化学研究发现柴胡的主要化学成分为挥发油、柴胡皂苷(saikosapins a、b、c、d 四种)、多糖及黄酮等,现代药理学研究表明柴胡挥发油和柴胡皂苷均对伤寒、副伤寒疫苗、大肠杆菌液、发酵牛奶、酵母等所致发热有明显解热作用,且能使动物正常体温下降。

[0003] 目前市售单味柴胡制剂都以挥发油为主要有效成分,由于挥发油浓度低,容易氧化产生变质,因此,现有的柴胡制剂存在工艺复杂、病人顺应性差、不良反应发生率高、用药途径有限等缺点。中国发明专利申请 CN1628834A (公开日:2005年6月22日)公开了一种柴胡冻干粉针剂及其制备方法。前述柴胡冻干粉针剂是由柴胡挥发油的 HP- β -CD 包合物 6~15 重量份、提取物 40~85 重量份和药用辅料 254~200 重量份制备而成,所述提取物中柴胡皂苷 a、d 的重量百分含量之和大于或等于 25%。前述技术方案提供了含有柴胡挥发油 HP- β -CD 包合物与柴胡皂苷的药物组合物,其中柴胡挥发油包合物与柴胡皂苷的重量比为 1:2.7~14.2。但该技术方案未明确其中柴胡挥发油与柴胡皂苷的配伍比例。通过比较有关羟丙基- β -环糊精和挥发油的近 400 篇文献,其中近 30 篇文献涉及到挥发油与羟丙基- β -环糊精的包合比例,纵观文献,包合比例均大于 1:6 (ml/g),多为 1:10 (ml/g),因此以柴胡挥发油的比重为 1,按最低比例 1:6 (ml/g)推算,前述技术方案中柴胡挥发油与柴胡皂苷的配伍比例约为 1:15.9~83.5(ml/g)。然而,通过试验发现,前述柴胡挥发油与柴胡皂苷的配伍比例不尽合理,影响了药物的治疗效果;同时,该技术方案只适用于冻干粉针剂剂型,用药途径非常有限。

[0004] 因此,仍需继续研究寻找配伍合理,疗效显著,用药途径广泛的柴胡制剂。

发明内容

[0005] 本发明的主要目的是针对上述现有技术中存在的柴胡制剂治疗效果不佳、用药途径有限的问题,提供一种解热镇痛效果显著,适应多种用药途径的柴胡解热镇痛制剂。进一步,本发明提供前述柴胡解热镇痛制剂的制备工艺。

[0006] 为了实现上述发明目的,本发明采用的技术方案如下:

[0007] 柴胡解热镇痛制剂,含有柴胡挥发油和柴胡皂苷,所述柴胡挥发油与柴胡皂苷的体积重量比为 1:0.5~10(ml/g)。发明人经过大量研究和筛选,得到了本发明的柴胡挥发油与柴胡皂苷的配伍比例。通过柴胡挥发油与柴胡皂苷的精当配伍,本发明的柴胡制剂解

热镇痛效果有显著提高,用药途径更加广泛。

[0008] 作为优选,前述柴胡解热镇痛制剂,所述柴胡挥发油与柴胡皂苷的体积重量比为 1:1 ~ 6 (ml/g)。通过进一步优选柴胡挥发油与柴胡皂苷的配伍比例,本发明的柴胡解热镇痛制剂的有效性、安全性和可控性得到进一步优化。

[0009] 作为优选,前述柴胡解热镇痛制剂,所述柴胡皂苷中柴胡皂苷 a 质量百分比含量 $\geq 40\%$,柴胡皂苷 d 质量百分比含量 $\geq 30\%$,柴胡总皂苷质量百分比含量 $\geq 80\%$ 。通过提高柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 的含量,本发明的柴胡解热镇痛制剂的有效性得到了更进一步的提高。

[0010] 作为优选,前述柴胡解热镇痛制剂,所述制剂选自颗粒剂、片剂、胶囊剂、口服液体制剂、鼻用液体制剂、注射剂或冻干粉针剂的任一种。

[0011] 作为本发明的第二个目的,本发明提供前述柴胡解热镇痛制剂的制备工艺。柴胡解热镇痛制剂的制备工艺,包括如下步骤:

[0012] (1) 取柴胡药材粉碎至 20 ~ 60 目,二氧化碳超临界萃取法、水蒸气蒸馏法或溶剂法提取柴胡挥发油;

[0013] (2) 取粉碎至 20 ~ 60 目的柴胡药材或所述步骤(1)提取挥发油后的药渣,乙醇渗漉,大孔树脂与氧化铝分离纯化,提取柴胡皂苷;

[0014] (3) 量取配方量步骤(1)所得的柴胡挥发油与配方量步骤(2)所得的柴胡皂苷,和配方量可药用辅料混合,制成柴胡解热镇痛制剂。

[0015] 作为优选,前述柴胡解热镇痛制剂的制备工艺,步骤(1)所述提取方法为二氧化碳超临界萃取法。通过优选柴胡挥发油的提取方法,可有效提高柴胡挥发油的收率,改善柴胡挥发油的溶解性。

[0016] 作为优选,前述柴胡解热镇痛制剂的制备工艺,步骤(2)所述氧化铝分离纯化包括:取大孔树脂分离纯化后的柴胡皂苷粗品,用 3 ~ 5 倍量 (mL/g) 溶剂分散,加入相当于所述柴胡皂苷粗品 2 ~ 5 倍量 (g/g) 氧化铝,拌干溶剂,得拌样氧化铝;或取所述柴胡皂苷粗品,加入 5 ~ 20 倍量 (mL/g) 溶剂溶解,得柴胡皂苷上样溶液;取相当于所述柴胡皂苷粗品 8 ~ 20 倍量 (g/g) 氧化铝,干法装柱;将所述拌样氧化铝或所述柴胡皂苷上样溶液加入柱顶,所述溶剂以每小时 5 ~ 10BV 速度洗脱,收集洗脱液,薄层检识,合并含有柴胡皂苷的流分,浓缩回收溶剂,得柴胡皂苷;所述溶剂选自水、乙醇、甲醇、二氯甲烷、氯仿或丙酮的任一种或它们的任意混合物。

[0017] 作为进一步优选,前述柴胡解热镇痛制剂的制备工艺,所述的氧化铝柱的径高比为 1:3 ~ 1:5。

[0018] 通过在大孔树脂分离纯化步骤后增加氧化铝分离纯化步骤,并选择流动相及固定相用量、流速,柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、柴胡总皂苷质量百分比含量均有显著提高。通过进一步筛选径高比,本发明制得的柴胡解热镇痛制剂中,柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、柴胡总皂苷质量百分比含量可达到最佳。

[0019] 作为优选,前述柴胡解热镇痛制剂的制备工艺,步骤(3)中,量取配方量步骤(1)所得的柴胡挥发油先进行包合。量取配方柴胡挥发油,先加入包合溶液(如 HP- β -CD 溶液)进行包合,得到柴胡挥发油包合物再与配方量柴胡皂苷,及可药用辅料进行混合,制成柴胡解热镇痛制剂。如此得到的柴胡解热镇痛制剂的有效性、稳定性和安全性进一步提高,并有

助于提高患者的顺应性。

[0020] 可药用辅料,是本领域常用的药剂辅料,具体可由本领域技术人员,根据剂型进行选择。可药用辅料在前述柴胡解热镇痛制剂中的比例,优选质量百分比含量为 20 ~ 99%。

[0021] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:

[0022] 一、发明人通过筛选柴胡挥发油和柴胡皂苷的精当配伍,本发明的柴胡解热镇痛制剂的解热镇痛效果较现有技术有显著提高,并进一步保证了药物的稳定性、安全性;

[0023] 二、本发明柴胡解热镇痛制剂的制剂类型广泛,可根据不同需要制备成各种制剂,应用方便,增加了患者顺应性;

[0024] 三、本发明通过改进柴胡皂苷的提取方法,柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d、柴胡总皂苷质量百分比含量均有显著提高,并因此进一步提高了本发明柴胡解热镇痛制剂的疗效。

具体实施方式

[0025] 下面结合具体实施方式对本发明的上述发明内容作进一步的详细描述。

[0026] 但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于下述实施例。在不脱离本发明上述技术思想情况下,根据本领域普通技术知识和惯用手段,做出各种替换和变更,均应包括在本发明的范围内。

[0027] 以下列举的实施例中所使用的柴胡药材为储藏期不超过半年、符合《中国药典》2010 年版要求的柴胡药材,其产地为四川省青川县马公乡,经四川省药检所鉴定为北柴胡。

[0028] 以下列举的实施例中,所使用的二氧化碳超临界萃取设备为杭州华黎泵业有限公司生产的 HL-CS-2L/50- II A 型超临界萃取装置。

[0029] 以下列举的实施例的检测方法:

[0030] (1) 柴胡皂苷 a、柴胡皂苷 d 测定方法:

[0031] HPLC 测定方法:

[0032] 高效液相色谱柱条件:色谱柱 DiamonsilC₁₈ (250×4.6mm);

[0033] 流动相:乙腈-水,梯度洗脱,洗脱程序见表 1:

[0034] 表 1. 洗脱程序

[0035]

| 时间(分钟) | 乙腈(体积%) | 水(体积%) |
|--------|---------|--------|
| 0-50 | 25-90 | 75 |
| 50-55 | 90 | 10 |

[0036] 流速:1ml/min;

[0037] 检测波长:210nm;

[0038] 进样量:10 微升。

[0039] (2) 比色法测定总皂苷

[0040] 以柴胡皂苷 a 为标准品,吸取一定量样品,加入 0.1% 的对二甲氨基苯甲醛的乙醇溶液,在 70℃ 水浴中反应 10min,放至室温,加磷酸 4ml,在 50℃ 水浴中反应 10min,在 542nm 测定吸光度,计算含量即可。

[0041] 实施例 1

[0042] 本实施例列举的是柴胡颗粒剂 350g, 配方如下:

[0043] 有效成分: 柴胡挥发油 3ml; 柴胡皂苷 6g;

[0044] 药用辅料: β -CD 30g, 蔗糖 256g, 糊精 64g, 淀粉浆适量。

[0045] 制备工艺:

[0046] (1) 取柴胡药材 1000g, 粉碎至 20 ~ 60 目, 用二氧化碳超临界萃取设备萃取柴胡挥发油:

[0047] 将粉碎的柴胡药材投入萃取釜中, 然后将依次经过净化器、冷却系统、高压泵的达到超临界的医用级二氧化碳流体以 20kg/h 左右的流速泵入萃取釜, 在温度为 40℃、压力为 20MPa 的条件下萃取 1.5h; 对萃取物进行两级分离, 分离釜 I 的操作条件为: 压力为 12MPa、温度为 40℃, 分离釜 II 的操作条件为: 压力为 6MPa、温度为 25℃; 从两级分离釜出口收集得到柴胡超临界产物; 萃取的柴胡超临界产物用 60 倍体积的水蒸馏 2h, 得到柴胡挥发油 3ml;

[0048] (2) 将步骤(1) 萃取剩余的药渣用 pH8 的碱性 70% 乙醇渗漉提取, 得提取液, 50℃ 减压浓缩, 浓缩液通过 D101 大孔树脂, 用乙醇洗脱, 收集洗脱液, 回收乙醇, 得柴胡皂苷粗品; 柴胡皂苷粗品, 加 5 倍量 (mL/g) 二氯甲烷: 甲醇 10:1 (v/v), 5000 转离心 15min, 取上清液, 上碱性氧化铝柱, 碱性氧化铝用量为柴胡总皂苷粗品的 10 倍量 (g/g), 径高比为 1:3, 二氯甲烷: 甲醇 6:1 ~ 10:1 混合溶剂洗脱, 洗脱速度每小时 8BV, 收集洗脱液, 薄层检识, 合并含有柴胡皂苷的流分, 浓缩回收溶剂; 经检测, 柴胡皂苷 a 质量百分比含量 45%, 柴胡皂苷 d 质量百分比含量 30.4%, 柴胡总皂苷质量百分比含量 86.7%;

[0049] (3) 将步骤(1) 所得柴胡挥发油加至 β -CD 饱和溶液中, 使柴胡挥发油与 β -CD 的包合比例为 1:10 (ml/g), 于 40℃、40kHz 条件下超声处理 1.5h 后, 于 4℃ 温度下冷藏 24h, 滤过, 所得滤渣为柴胡挥发油包合物;

[0050] (4) 取步骤(3) 柴胡挥发油包合物, 按柴胡挥发油 (ml): 柴胡皂苷 (g) = 1:2, 加入步骤(2) 制得的柴胡皂苷 6g, 10 倍量的蔗糖 - 糊精 (4:1) 作为稀释剂, 10% 的淀粉作为粘合剂, 过 1 号筛制粒, 50℃ 干燥, 干颗粒过 20 目筛整粒, 制成 350g, 包装, 即得。

[0051] 实施例 2

[0052] 本实施例列举的是柴胡鼻滴剂 1000ml, 配方如下:

[0053] 有效成分: 柴胡挥发油 1ml; 柴胡皂苷 10g;

[0054] 药用辅料: HP- β -CD 30g, 氯化钠 9g。

[0055] 制备工艺:

[0056] (1) 取柴胡药材 1000g, 粉碎至 20 ~ 60 目, 加水 10 倍量, 70℃ 浸泡 8 小时, 蒸馏, 收集挥发油, 约 1ml;

[0057] (2) 取柴胡经超临界萃取挥发油后药渣, 加入 12 倍药材体积的 65% (v/v)、pH 值为 8 的乙醇浸泡 24 小时, 进行渗漉, 渗漉流速为 10mL/min, 收集渗漉液, 65℃ 减压浓缩成相对密度为 1.1 ~ 1.2 的浓缩液;

[0058] 将浓缩液上 D101 大孔树脂柱, 树脂柱径高比为 1:3, 静态吸附 6 小时, 搅拌吸附 6h, 再动态吸附, 吸附流速为 1.5BV/h, 然后用 6BV 水洗柱除杂, 再用 4BV30% (v/v) 乙醇除杂; 80% (v/v) 乙醇 6BV 洗脱, 洗脱流速 1BV/h, 收集 80% (v/v) 乙醇洗脱液, 50℃ 减压浓缩回收

溶剂得柴胡皂苷粗品,检测可得:柴胡皂苷 a+d 含量为 36.5%,柴胡总皂苷含量为 56.8%;

[0059] 上述柴胡皂苷粗品,加 3 倍量(mL/g)乙醇分散,加相当于所述柴胡皂苷粗品 2 倍量(g/g)中性氧化铝,拌干溶剂得拌样氧化铝;取相当于所述柴胡皂苷粗品 20 倍量(g/g)中性氧化铝,干法装柱,径高比为 1:5,二氯甲烷:甲醇 6:1-10:1 (v/v)混合溶剂洗脱,洗脱速度 8BV,收集洗脱液,薄层检识,合并含有柴胡皂苷的流分,浓缩回收溶剂,检测可得:柴胡皂苷 a 质量百分比 40%、柴胡皂苷 d 质量百分比含量为 30.1%,柴胡总皂苷质量百分比含量为 83.2%。

[0060] (3)将步骤(1)萃取的柴胡挥发油加至浓度为 3g/100ml 的 HP- β -CD,包含比例为 1:10 (ml/g),于 50℃、40kHz 条件下超声处理 2h 后于 6℃温度下冷藏 12h,滤过,得到柴胡挥发油包合液约 1000ml;

[0061] (4)取步骤(3)所得柴胡挥发油包合液,按柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:10,加入步骤(2)制得的柴胡皂苷 10g,氯化钠 9g,加水至 1000ml,搅匀,用 0.45 μ m 孔径微孔滤膜精滤,即得。

[0062] 实施例 3

[0063] 本实施例列举的是柴胡口服液 1000ml,配方如下:

[0064] 有效成分:柴胡挥发油 4ml;柴胡皂苷 4g;

[0065] 药用辅料:HP- β -CD 50g,阿斯巴甜 2g。

[0066] 制备工艺:

[0067] (1)取柴胡药材 1000g,粉碎至 20~60 目,用二氧化碳超临界萃取设备萃取柴胡挥发油:萃取工艺同实施例 1,其中所述超临界医用级二氧化碳流体的流速为 20kg/h,萃取条件为:35℃、25MPa,萃取时间为 1h,分离釜 I 的操作条件为:压力为 12MPa、温度为 35℃,分离釜 II 的操作条件为:压力为 6MPa、温度为 30℃;从两级分离釜出口收集得到以柴胡挥发油为主要组分的超临界产物;将萃取的柴胡超临界产物用 40 倍质量的水蒸馏 2h,收得柴胡挥发油 4ml;

[0068] (2)取柴胡经超临界萃取挥发油后药渣,加入 12 倍药材体积的 65% (v/v)、pH 值为 8 的乙醇浸泡 24 小时,进行渗漉,渗漉流速为 10mL/min,收集渗漉液,65℃减压浓缩成相对密度为 1.1~1.2 的浓缩液;

[0069] 将浓缩液上 D101 大孔树脂柱,树脂柱径高比为 1:3,静态吸附 6 小时,搅拌吸附 6h,再动态吸附,吸附流速为 1.5BV/h,然后用 6BV 水洗柱除杂,再用 4BV30%(v/v)乙醇除杂;80% (v/v)乙醇 6BV 洗脱,洗脱流速 1BV/h,收集 80% (v/v)乙醇洗脱液,50℃减压浓缩回收溶剂得柴胡皂苷粗品,检测可得:柴胡皂苷 a+d 含量为 36.5%,柴胡总皂苷含量为 56.8%;

[0070] 上述柴胡皂苷粗品,加 20 倍量(mL/g)乙醇溶解,5000 转离心 15min,取上清液,上碱性氧化铝柱,碱性氧化铝用量为柴胡皂苷粗品的 10 倍量(g/g),干法装柱,径高比为 1:5,二氯甲烷:甲醇 6:1-10:1 (V/V)混合溶剂洗脱,洗脱速度每小时 6BV,收集洗脱液,薄层检识,合并含有柴胡皂苷的流分,浓缩回收溶剂,薄层检识,合并含有柴胡皂苷的流分,浓缩回收溶剂,得高纯度柴胡皂苷,检测可得:柴胡皂苷 a 质量百分比含量 40.6%、柴胡皂苷 d 质量百分比含量为 30.2%,柴胡总皂苷质量百分比含量为 85.7%;

[0071] (3)将步骤(1)萃取的柴胡挥发油加至浓度为 5g/100ml 的 HP- β -CD,包含比例为 1:10 (ml/g),于 30℃、40kHz 条件下超声处理 1.5h 后于 4℃温度下冷藏 24h,滤过,得到柴

胡挥发油包合液,约 1000ml ;

[0072] (4)取步骤(3)制备的柴胡挥发油包合液,按柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:1,加入步骤(2)制得的柴胡皂苷 4g,阿斯巴甜 2g,加水至 1000ml,搅匀,滤过,灌封,灭菌,即得。

[0073] 实施例 4

[0074] 本实施例列举的是柴胡分散片 30g,配方如下:

[0075] 有效成分:柴胡挥发油 2ml ;柴胡皂苷 12g ;

[0076] 药用辅料: β -CD 20g, CMS-Na 1.2g, PVPP 2.4g, MCC 0.56g, 微粉硅胶 0.24g, 70%乙醇适量。

[0077] 制备工艺:

[0078] (1)取柴胡药材 1000g,粉碎至 20~60 目,加正己烷 8 倍量,微波提取 30min,滤过,回收正己烷,得浓缩物;将所得浓缩物用 50 倍体积的水蒸馏 2h,得到柴胡挥发油 2ml ;

[0079] (2)取柴胡经超临界萃取挥发油后药渣,加入 12 倍药材体积的 65% (v/v)、pH 值为 8 的乙醇浸泡 24 小时,进行渗漉,渗漉流速为 10mL/min,收集渗漉液,65℃减压浓缩成相对密度为 1.1~1.2 的浓缩液;

[0080] 将浓缩液上 D101 大孔树脂柱,树脂柱径高比为 1:3,静态吸附 6 小时,搅拌吸附 6h,再动态吸附,吸附流速为 1.5BV/h,然后用 6BV 水洗柱除杂,再用 4BV30%(v/v)乙醇除杂;80% (v/v)乙醇 6BV 洗脱,洗脱流速 1BV/h,收集 80% (v/v)乙醇洗脱液,50℃减压浓缩回收溶剂得柴胡皂苷粗品,检测可得:柴胡皂苷 a+d 含量为 36.5%,柴胡总皂苷含量为 56.8%;

[0081] 取上述柴胡皂苷粗品,加 5 倍量(mL/g)二氯甲烷:甲醇 5:1(v/v)分散,加相当于上述柴胡皂苷粗品 5 倍量(g/g)酸性氧化铝,拌干溶剂,得拌样氧化铝;取相当于上述柴胡皂苷粗品 8 倍量(g/g)酸性氧化铝,干法装柱,径高比为 1:3,二氯甲烷:甲醇 6:1~10:1(V/V)混合溶剂洗脱,洗脱速度每小时 5BV,收集洗脱液,薄层检识,合并含有柴胡皂苷的流分,浓缩回收溶剂,检测可得:柴胡皂苷 a 质量百分比含量为 41%、柴胡皂苷 d 质量百分比含量为 33.4%,柴胡总皂苷质量百分比含量为 83.3%;

[0082] (3)将步骤(1)所得柴胡挥发油加至 β -CD 饱和溶液中,使柴胡挥发油与 β -CD 的包合比例为 1:10 (ml/g),于 40℃、40kHz 条件下超声处理 1.5h 后,于 4℃温度下冷藏 24h,滤过,所得滤渣为柴胡挥发油包合物;

[0083] (4)取步骤(3)所得柴胡挥发油包合物,按柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:6,加入步骤(2)制得的柴胡皂苷 12g, CMS-Na 1.2g, PVPP 2.4g, MCC 0.56g, 微粉硅胶 0.24g, 以 70%乙醇作为稀释剂,过 1 号筛制粒,50℃干燥,干颗粒过 20 目筛整粒,压片,即得。

[0084] 实施例 5

[0085] 本实施例列举的是柴胡冻干粉针剂 100g,配方如下:

[0086] 有效成分:柴胡挥发油 4ml ;柴胡皂苷 2g ;

[0087] 药用辅料:HP- β -CD 100g。

[0088] 制备工艺:

[0089] (1)取柴胡药材 1000g,粉碎至 20~60 目,用二氧化碳超临界萃取设备萃取柴胡挥发油:萃取工艺同实施例 1,其中所述超临界医用级二氧化碳流体的流速为 25kg/h,萃取条件为:45℃、25MPa,萃取时间为 1h,分离釜 I 的操作条件为:压力为 12MPa、温度为 40℃,分

离釜 II 的操作条件为：压力为 8MPa、温度为 25℃；从两级分离釜出口收集得到以柴胡挥发油为主要组分的超临界产物；将步骤(1)萃取的柴胡超临界产物用 50 倍质量的水蒸馏 2h，收得挥发油 4ml；

[0090] (2)将步骤(1)萃取剩余的药渣用 pH9 的碱性 75% 乙醇渗漉提取，得提取液，40℃ 减压浓缩，浓缩液通过 D101 大孔树脂，用乙醇洗脱，收集洗脱液，回收乙醇，回收液通过氧化铝柱(柴胡皂苷粗品加 11 倍量(mL/g)二氯甲烷：甲醇 10:1(v/v) 溶解，其他同实施例 1)，收集过柱液，浓缩，干燥，即得柴胡皂苷；经检测，柴胡皂苷 a 质量百分比含量 47%，柴胡皂苷 d 质量百分比含量 40%，柴胡总皂苷质量百分比含量 90%；

[0091] (3) 将步骤(1)萃取的柴胡挥发油加至浓度为 10g/100ml 的 HP-β-CD，包含比例为 1:10 (ml/g)，于 35℃、40kHz 条件下超声处理 2h 后于 5℃ 温度下冷藏 12h，滤过，得到柴胡挥发油包合液，近 1000ml；

[0092] (4)取步骤(3)所得柴胡挥发油包合液，按柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:0.5，加步骤(2)制得的柴胡皂苷 2g，加水至 1000ml，搅匀，切向流超滤系统过滤，分装于灭菌注射用瓶中，冷冻干燥，制得柴胡冻干粉针 500 支。

[0093] 试验例

[0094] 试验例 1 本试验例是关于本发明柴胡解热镇痛制剂解热作用的对比试验柴胡冻干粉针对 2,4-二硝基苯酚致发热家兔的解热作用

[0095] 试验动物：健康的大耳白家兔 36 只，雌雄兼用，体重 2.02 ± 0.20 kg。

[0096] 试验分组：随机分为空白对照组、模型组、对照组 1、对照组 2、样品组 1、样品组 2。冻干粉针剂的制备方法同前述实施例 5。其中，对照组 1 的柴胡冻干粉针剂，柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:16；对照组 2 的柴胡冻干粉针剂，柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:20；样品组 1 的柴胡冻干粉针剂，柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:0.5；样品组 2 的柴胡冻干粉针剂，柴胡挥发油(ml):柴胡皂苷(g)=1:6。

[0097] 试验方法：每组 6 只，分笼饲养。实验之前连续测量三天家兔体温，选择体温在 38.5 ~ 39.5℃ 之间的合格家兔，称重、固定，待其稳定后每隔 10min 测一次家兔体温，连续测三次，求其平均值作为基础体温。样品组 1、样品组 2、对照组 1、对照组 2、模型组背部皮下注射 1.25% 2,4-二硝基苯酚水溶液 25mg/kg，空白组注射 2ml/kg 生理盐水，后每半小时测量一次体温，待体温上升 1℃ 左右时，空白对照组与模型组均肌肉注射生理盐水 1.0mL/kg，对照组 1、对照组 2、样品组 1、样品组 2 均临用前取 1 支加 2ml 生理盐水溶解，分别肌肉注射，给药后第 2h 测定体温。各给药组家兔的体温以均数加减标准差表示，以 SPSS 12.0 统计学软件统计，结果见表 2。

[0098] 表 2. 柴胡冻干粉针剂对 2,4-二硝基苯酚致家兔发热反应的影响($\bar{x} \pm S$, n=6)

| 组别 | N | 基础体温 (°C) | 致热 2h 体温 (°C) | 药后 2h 体温 (°C) |
|--------------|---|------------|--------------------------|--------------------------|
| 空白组 | 6 | 39.25±0.27 | 39.13±0.28 | 39.25±0.28 ^{△△} |
| 模型组 | 6 | 39.34±0.18 | 40.05±0.23 ^{**} | 39.83±0.20 |
| [0099] 对照组 1 | 6 | 39.22±0.23 | 40.03±0.34 ^{**} | 39.42±0.28 [△] |
| 对照组 2 | 6 | 39.18±0.30 | 40.11±0.29 ^{**} | 39.38±0.26 [△] |
| 样品组 1 | 6 | 39.09±0.24 | 39.85±0.22 ^{**} | 39.27±0.27 ^{△△} |
| 样品组 2 | 6 | 39.16±0.31 | 40.00±0.14 ^{**} | 38.93±0.39 ^{△△} |

[0100] 与空白组相比 *P<0.05, **P<0.01 ;与模型组相比[△]P<0.05, ^{△△}P<0.01

[0101] 由表 2 可知,模型组、对照组 1、对照组 2、样品组 1、样品组 2 致热 2h 体温与空白组比较,体温升高有显著性差异,表明造模成功;给药后 2h,样品组 1、样品组 2 与模型组比较,体温下降有非常显著性差异,并且样品组 1、样品组 2 的退热效果较对照组 1、对照组 2 为好,表明本发明柴胡解热镇痛制剂的退热作用良好,疗效可靠。

[0102] 试验例 2 本试验例是关于本发明柴胡解热镇痛制剂镇痛作用的对比试验

[0103] 柴胡冻干粉针对小鼠经热板法引起疼痛反应的镇痛作用

[0104] 试验动物:雌性小鼠,50 只,体重 18~22g。

[0105] 试验分组:同柴胡冻干粉针对 2,4-二硝基苯酚致发热家兔的解热作用,但不设模型组。

[0106] 试验方法:每组 10 只,分笼饲养。各组分别给药 7 天,于末次给药后 1h,将小鼠放于 55°C 的金属板上,以踢腿、舔后足、跳跃等作为痛反应指标,测量每只小鼠的痛阈值,结果见表 3。

[0107] 表 3. 柴胡冻干粉针剂对小鼠经热板法引起疼痛反应的影响($\bar{x} \pm S$, n=10)

[0108]

| 组别 | N | 痛阈值 (S) | |
|-------|----|------------|----------------------------|
| | | 给药前 | 给药后 |
| 空白组 | 10 | 17.16±0.97 | 17.36±0.71 ^{△△} |
| 对照组 1 | 10 | 17.53±0.78 | 26.61±2.09 ^{**} |
| 对照组 2 | 10 | 17.64±1.02 | 28.50±1.88 ^{**} |
| 样品组 1 | 10 | 17.43±1.23 | 32.07±2.52 ^{**△△} |
| 样品组 2 | 10 | 17.66±0.95 | 33.93±1.60 ^{**△△} |

[0109] 与空白组相比 *P<0.05, **P<0.01 ;与对照组相比[△]P<0.05, ^{△△}P<0.01

[0110] 由表 3 可知,样品组 1、样品组 2 的镇痛效果较对照组 1、对照组 2 为好且有显著性差异,表明本发明柴胡解热镇痛制剂的镇痛作用较现有柴胡制剂有明显提高。